

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS  
NATIONAL BOARD OF PATENTS AND REGISTRATION

Helsinki 27.04.99

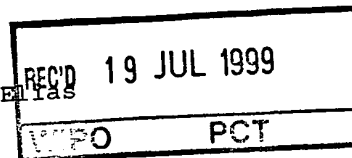
09/646043

23/09  
PCT / F I 9 9 / 0 0 1 9 2  
5

ETUOIKEUSTODISTUS  
PRIORITY DOCUMENT

Hakija  
Applicant

HAKALEHTO, Elias  
Kuopio



Patenttihakemus nro  
Patent application no

980571

Tekemispäivä  
Filing date

13.03.98

Kansainvälinen luokka  
International class

C 12Q

Keksinnön nimitys  
Title of invention

"Mikrobien osoitusmenetelmä"

Täten todistetaan, että oheiset asiakirjat ovat tarkkoja jäljennöksiä patentti- ja rekisterihallitukselle alkuaan annetuista selityksestä ja patenttivaatimuksista.

This is to certify that the annexed documents are true copies of the description and claims originally filed with the Finnish Patent Office.

*Pirjo Kaila*  
Pirjo Kaila  
Tutkimussihteeri

PRIORITY DOCUMENT

Maksu 220,- mk  
Fee 220,- FIM

Osoite: Arkadiankatu 6 A  
Address: P.O.Box 1160  
FIN-00101 Helsinki, FINLAND

Puhelin: 09 6939 500  
Telephone: + 358 9 6939 500

Telefax: 09 6939 5204  
Telefax: + 358 9 6939 5204

2

21

### Keksinnön tausta

Osoitettaessa mikrobeja esimerkiksi klinisistä näytteistä, elintarvike- tai ympäristönäytteistä, mikrobien pitoisuudet alkuperäisessä näytteessä ovat yleensä niin alhaiset, että tarvitaan nk. rikastusmenetelmiä, joiden avulla osoitettavien mikrobien määrää ja pitoisuutta näytteessä lisätään. Tähän käytetään eri mikrobeille soveltuvia spesifisiä viljelymenetelmiä, joihin sisältyy tavallisesti nk. selektiivisen tekijän käyttö muiden mikrobien lisääntymisen estämiseksi.

Mikrobien osoittamisessa rikastusmenetelmiin turvautuminen merkitsee ajanhukkaa ja siksi niiden toteuttamiseen, tarvittavan ajan lyhentäminen on suotavaa.

Spesifisessä mikrobien tunnistamisessa käytetään usein eläimissä tai soluviljelmissä tuotettuja vasta-aineita (immunologiset menetelmät). Niitä käytetään usein mikrobien osoitukseen rikastusviljelmistä. Ongelmana voi tällöin olla se, että testin suorittajalla ei ole tarkkaa tietoa siitä, sisältävätkö tutkittava viljelmä ja siinä olevat solut riittävästi osoitettavia antigeenisia molekyylejä.

### Keksinnön kuvaus

Kasvatettaessa Salmonella-suvun bakteerilajeja ja muita cnteerisiä bakteereita selektiivisillä ravintoalustoilla havaittiin, että ne muodostivat runsaasti spesifisiä antigeenisia molekyylejä jo ennen kuin varsinainen solujen lukumäärään perustuva mikrobipopulaation kasvu oli maksimissaan. Itse asiassa spesifisten vasta-aineiden havaitsemien antigeenien pitoisuus solujen pinnoilla oli oleellisesti vähentynyt huippulukumistaan solukasvun lähestyessä maksimiaan rikastusviljelmässä. Tämän vuoksi immunologisen osoitusmenetelmän käyttäminen voi tapahtua nykyisin tunnettuja menetelmiä aikaisemmin heti ns. stationäärisen vaiheen päättymisen jälkeen ennen kuin solujen lukumäärä on olennaisesti lisääntynyt esimerkiksi pesäkelaskuun perustuvien laskentamenetelmien avulla määritettäessä. Selektiivisenä tekijänä rikastusviljelyssä voidaan käyttää esimerkiksi lämpötilaa, ravintoalustan koostumusta, antibiootteja tai muita selektiivisiä molekyylejä sekä eri kaasujen osapaineiden säätelyä.

12

2

## VAATIMUKSET

1. Mikrobiologinen määrittäminen menetelmä, jonka avulla mikrobit osoitetaan kasvualustaltaan selvästi ennen populaation solukasvun huippua solujen heti stationäärivaiheen jälkeen syntetisoimien antigeenien avulla.
2. Vaatimuksen 1 mukainen menetelmä, jossa mikrobiantigeenit osoitetaan immunologisesti vasta-aineiden avulla.
3. Vaatimusten 1 ja/tai 2 mukainen menetelmä, jossa osoitettavat antigeenit ovat proteiineja.
4. Jonkin vaatimuksista 1-3 mukainen menetelmä, jossa osoitettavat mikrobit ovat bakteereja.
5. Jonkin vaatimuksista 1-3 mukainen menetelmä, jossa osoitettavat mikrobit ovat enterisiä bakteereja.
6. Jonkin vaatimuksista 1-3 mukainen menetelmä, jossa osoitettavat mikrobit ovat fekaalisia koliformeja.
7. Jonkin vaatimuksista 1-3 mukainen menetelmä, jossa osoitettavat mikrobit kuuluvat sukuun Salmonella.
8. Yhden tai useamman vaatimuksista 1-7 mukainen menetelmä, jossa mikrobeja inkuboidaan ennen immunologista osoitusta niiden optimilämpötilassa.
9. Jonkin vaatimuksista 1-7 mukainen menetelmä, jossa mikrobeja inkuboidaan ennen osoitusta yli 40 °C:n lämpötilassa.

